

ÜBER EINEN TEST ZUR ZELLSTÄNDIGEN IMMUNITÄT:

LEUKOZYTEN – ADHÄRENZ – INHIBITION

Elmar Dietmair

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Hämatologischen Abteilung
(Leiter: Prof. Dr. Fritz Lampert)
der Universitäts-Kinderklinik München
(Direktor: Prof. Dr. Klaus Betke)

ÜBER EINEN TEST ZUR ZELLSTÄNDIGEN IMMUNITÄT:

LEUKOZYTEN – ADHÄRENZ – INHIBITION

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Elmar Dietmair

aus

Augsburg

1974

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Fritz Lampert
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Klaus Betke
Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24. September 1974



1. Einleitung

Die Adhärenz von Leukozyten an Glas ist ein selten untersuchter Zellparameter. Doch bereits 1930 stellte von PHILIPSBORN Unterschiede in der "Klebrigkeit der lebenden Leukozyten gesunder und kranker Menschen" fest. 1972 erschienen drei weitere Veröffentlichungen zu diesem Thema. WEISS und HARLOS (1972) sowie BRYANT und SUTCLIFFE (1972) befaßten sich mehr mit der theoretischen Seite der Leukozytenadhärenz; sie untersuchten Adhäsionskräfte und deren Beeinflussung durch bestimmte chemische Substanzen und verschiedene physikalische Bedingungen. HALLIDAY und MILLER (1972) dagegen benutzten diesen Zellparameter, um Phänomene der Tumorummunologie zu untersuchen. Sie nannten ihren Test Leukozyten - Adhärenz - Inhibitions - Test (LAI). Dabei verwendeten sie Neubauer - Zählkammern, um nach Antigen - Inkubation die Zahl haftender Zellen nach vorsichtigem Abschwemmen zu bestimmen. Sie führten ihre Versuche mit Peritonealmakrophagen tumortragender Mäuse durch.

Ich habe diesen Test modifiziert und mit Hilfe des Coulter - Counter die Zellzählung vereinfacht. Es war darüber hinaus möglich, aus menschlichem Blut isolierte Leukozyten als Zellsubstrat (als sensibilisierte Zellen und als Zielzellen) zu verwenden. Nach grundlegenden Versuchen mit Tuberkulin als Antigen (Modell für die zellständige Immunität) wurde auch der modifizierte LAI - Test auf dem Gebiet der Tumorummunologie angewandt. Auch mit Pilzantigenen (Candida und Kryptokokken) ließ sich der Test durchführen.

2. Materialien und Methoden

2.1. Antigene

2.1.1. Tuberkulin

Für die Tuberkulin - Testreihe wurde Tuberkulin der Firma Behring in den Stärken 10, 100, und 1000 verwendet. Das Tuberkulin wurde dabei nicht in dem dafür vorgesehenen Lösungsmittel, das Phenol enthält, sondern in Hank's Solution gelöst.

2.1.2. Phytohämagglutinin (PHA)

Die PHA - Stammlösung wurde für die Versuche 1:500 mit dem unter 2.2. angegebenen Kulturmedium verdünnt.

2.1.3. Kryptokokkenantigen

Das Kryptokokkenantigen bestand aus Kryptokokkuspertikeln, die in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert waren ($0,6$ bis $1,2 \times 10^8$ Partikel pro ml). Das Antigen wurde mir von Herrn Dr. med F. Neuhaus dankenswerterweise überlassen.

2.1.4. Candida - Antigen

Es wurde Candida - Antigen verwendet, das in physiologischer NaCl - Lösung gelöst war und eine Konzentration von 500 bzw. 1000 PNU/ml aufwies. Das Antigen wurde mir von Herrn Dr. Grosse - Wilde zur Verfügung gestellt.

2.1.5. Tumorantigene

Wasserlösliche Tumorextrakte werden wie folgt gewonnen:

1 bis 2 cm³ frisches Tumorgewebe (bzw. befallene Lymphknoten oder Metastasen) werden unter sterilen Bedingungen von Bindegewebe und Fett befreit.

In einem Glashomogenisator werden die gesäuberten Gewebeteile zusammen mit Hank's Solution ad 5 ml 10 bis 15 min lang homogenisiert. Es sollte möglichst viel Gewebe schonend zerrieben werden, da sich das Tumorentigen auf der Zelloberfläche befindet (SUTER et al., 1972). Eine anschließende Zentrifugation bei 1500 g für 30 min sorgt für die Sedimentation der größten Partikel. Der Überstand wird einer Ultrazentrifugation bei 100 000 g für 30 min unterzogen. Dabei wird im Überstand die antigenwirksame Fraktion gewonnen (ANDERSEN et al., 1969; BLOOM et al., 1966; HALLIDAY, 1972; HALLIDAY und MILLER, 1972). Die Lösung wird auf einen Eiweißgehalt von 1 bis 5 mg pro ml eingestellt, portioniert und bei -20°C aufbewahrt.

2.2.

Leukozyten-(Lymphozyten- und Monozyten-)isolation und Mehrtage - Kultur

Aus einer peripheren Vene werden 10 ml Blut in eine sterile heparinisierte Spritze aufgezogen. Zwei Reagenzgläser füllt man mit je 5 ml Uromiro - Lösung (20 ml Uromiro 380, Dr. Köhler - Chemie, und 98,6 ml aqua dest. ster.), die ein spezifisches Gewicht von 1,076 g/ml besitzt. Das Blut wird mit einer umgebogenen Kanüle vorsichtig darüberschichtet. Es folgt eine Zentrifugation bei 600 g für 30 min. Dabei reichern sich Lymphozyten und Monozyten im oberen Teil einer weißen Bande (Jodamid) an, die nach oben von einer gelben Schicht (Serum) und nach unten von einer roten Schicht (Erythrozyten) begrenzt wird (OFFIC und SCHMID, 1970).

Die weiße Schicht wird mit einer Pasteur - Pipette abgezogen und die so gewonnen Zellsuspension

sion zweimal mit Hank's Solution gewaschen und anschließend bei 37°C in einem Medium aus fötalem Kälberserum, 1,78 ml 5,6-iger Natriumbikarbonat - Lösung, 1 ml Albiotic^R, 2 Tropfen Phenolrot, sowie Eagle's Basalmedium ad 100 ml für 2 - 4 Tage bei 37°C kultiviert. Manchmaliges Aufschütteln der Kultur ist von Vorteil. Eine typische Differenzierung dieser Zellsuspension vor der Kultur ergibt: 83 % Lymphozyten, 1 % Granulozyten, 16 % Monozyten (SCHOLLS et al., 1972). Nicht selten jedoch betrug der Lymphozytenanteil 90 % und mehr.

2.3.

Zell - Antigen - Inkubation

Die Zellen werden aus dem Kulturmedium abzentrifugiert und die Suspension wird auf etwa 20 000 Zellen pro mm^3 eingestellt. Je 0,1 ml Suspension wird in ein Eppendorf - Plastikhütchen gegeben. Dazu kommen je 0,1 ml Antigen und/oder 0,1 ml 1:10 verdünntes Serum (HALLIDAY und MILLER, 1972). Das Hütchen mit dem Kontrollansatz enthält statt Antigen 0,1 ml Hank's Solution. Alle Hütchen werden 30 min bei 37°C inkubiert. Während dieser Zeit schüttelt man die Hütchen 3 bis 4 x kräftig auf.

2.4

Zählung

Für jeden Ansatz werden 7 bis 10 Coulter - Counter - Meßgefäße mit je 10 ml Isoton^R gefüllt. Dazu kommen je 30 unpolierte Glaskugeln mit einem Durchmesser von 5 mm, die gründlich mit einem Detergentium, heißem Wasser, sowie abwechselnd 1 N NaOH und 1 N HCl und zum Schluß mit aqua dest. gereinigt sind. Die Kugeln sollten absolut staub- und fettfrei sein. In jedes

dieser Coulter - Röhrchen gibt man ungefähr 20 Mikroliter der inkubierten Ansätze.

Es ist nicht entscheidend, exakt 20 Mikroliter zuzugeben, da ja nur das Verhältnis der Zellzahlen berechnet wird. Aber eine gewisse Konstanz sollte gewahrt bleiben, um systematische Fehler konstant zu halten. Aus demselben Grund ist eine gute Durchmischung von Vorteil.

Die so präparierten Röhrchen werden 2 bis 3 mal kräftig aufgeschüttelt und ihr Inhalt sofort mit dem Coulter - Counter (Modell Fn 6) gezählt. Dabei haben sich Zellzahlen zwischen 10 000 und 15 000 als günstig für den Test erwiesen.

Die Röhrchen müssen nun 2 Stunden absolut ruhig stehen. Erst dann ist die maximale Adhärenz erreicht. Unmittelbar vor der zweiten Messung wird jedes Röhrchen vorsichtig um 360° gedreht, sodaß die Kugeln zum anderen Ende rollen und wieder zurück. Turbulenzen, die die Zellen vom Glas losreißen könnten, sollten dabei nicht auftreten. Dann wird die Zellzahl ein zweites Mal bestimmt.

2.3.

Berechnung

Die Differenz der beiden Messungen ($n_1 - n_2$) ergibt die Zahl der adhärenten Zellen, diese wiederum dividiert durch die Zahl der ersten Messung und multipliziert mit 100 ($\frac{n_1 - n_2}{n_1} \times 100$) ergibt den prozentuellen Anteil der adhärenten Zellen an der Gesamtpopulation. Mittelwert und Standardabweichung werden für jeden Ansatz berechnet, signifikante Unterschiede der Adh rente mit dem Student - t - Test verifiziert (Signifikanzschwelle $p = 0,05$).

Alle Daten wurden auf vier Dezimalstellen berechnet, jedoch für die Tabellen auf ganze Zahlen auf-, bzw. abgerundet.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird in Analogie zum Makrophagen - Migrations - Inhibitions - Test ein Adhärenz - Quotient (AIQ) und ein Serum - Blocking - Factor - Quotient (SBFQ) eingeführt.

$$AIQ = 100 - \frac{\% \text{ adh. Zellen mit Antigen}}{\% \text{ adh. Zellen ohne Antigen}} \times 100$$

$$\frac{\% \text{ adh. Zellen mit Ag + Serum} - \% \text{ adh. Zellen mit Ag}}{\% \text{ adh. Zellen ohne Ag} - \% \text{ adh. Zellen mit Ag}} \times 100$$

Der AIQ bezeichnet das Ausmaß der Adhärenzinhibition, der SBFQ das der Blockierung der Adhärenzinhibition. Bei nicht signifikanten Unterschieden wurden die Quotienten gleich Null gesetzt.

3. Patienten

Im folgenden werden Angaben zu den Patienten mit Tumorerkrankungen gemacht, um Beziehungen zwischen klinischem Zustand und dem Ergebnis des LAI - Tests zu verdeutlichen.

3.1. Neuroblastoma sympathicum

3.1.1. L.D.: männlich, geb. 1971

Totalexstirpation eines 1,5 kg schweren Tumors samt Niere rechts retroperitoneal; histologisch: unreifes Neuroblastom mit herdförmigen Nekrosen und Verkalkungen; zytologisch: vereinzelt kleine Lymphozyten zwischen den Tumorzellen. LaBrosse - Urin - Spotttest auf erhöhte Vanillinmandelsäure- (VMS-)ausscheidung vor der Operation positiv, nach der Operation immer negativ. Postoperative Tumorbettbestrahlung, Chemotherapie mit Vincristin (VCR) und Cyclophosphamid 3 Monate lang. LAI-Test am Tage vor der Operation sowie 1, 3 und 5 Monate später. Dabei starke Adhärenzinhibition (LAI: 30, 30, 36, 75) durch autogenes Antiserum. Vor der Operation sehr starke Blockierung der Adhärenzinhibition durch Eigenserum (SBF: 95), danach sehr geringe Blockierung (14, 40, 33).

3.1.2. L.B.: weiblich, geb. 1960

Rechtsseitiger, faustgroßer, thorakaler Tumor (undifferenziert, kleinzellig, ohne Rosettenbildung) mit Infiltration von Lunge und Rippen. LAI in Urin: 1,8 - Ausscheidung (9 mg/24 h) unbeeinträchtigt, 3 Wochen p.op. wie vor Operation. Histologisch: Tumor frei nach Operation, Tumorbettbe-

strahlung und einjähriger Chemotherapie mit Vincristin und Cyclophosphamid. LAI - Test 1 Monate p.op. mit Antigen L.D.: AIQ = 48, SBFQ mit Eigenserum = 100. Die letzten Untersuchungen ergaben einen Verdacht auf ein Rezidiv in der Beckenschaufel.

- 3.1.3. L.A.: weiblich, geb. 1952
Von der linken Nebenniere ausgehendes Neuroblastom mit massiver Metastasierung in das Skelett (Knochenmark) und Lymphknoten. Stets erhöhte VMS - Ausscheidung. Nur kurzfristige Remission durch Vincristin und Cyclophosphamid. Tod in Kachexie nach 9 Monaten. LAI - Test 8 Monate nach Krankheitsbeginn starke Adhärenz-inhibition durch die Neuroblastomantigene L.D. und FX.L. (AIQ = 41 bzw. 62). SBFQ = 98 bzw. 100.
- 3.1.4. R.R.: männlich, geb. 1968
Massiver Befall von Knochenmark und Lymphknoten, kein Primärtumor auffindbar. Immer extrem erhöhte VMS - Ausscheidung. Nur kurzfristige Teilremission durch Zytostatika. Tod in Kachexie nach 12 Monaten. LAI - Test 7 und 10 Monate nach Krankheitsbeginn: AIQ = 46 bzw. 13. SBFQ = beide Male 100.
- 3.1.5. FX.L.: männlich, geb. 1961
Doppelt - faustgroßer, vom Oberbauch bis zum Thorax reichender Tumor mit Skelettmetastasierung. VMS - Ausscheidung sehr hoch (40 mg/24 h). Keine Knochenmarksremission durch Zytostatika. LAI - Test 5 Monate nach Tumorentfernung. AIQ = mit autogenem Antigen 40. SBFQ = 95. Mit Tumor moribund 1 1/2 Jahre nach Operation.
- 3.1.6. I.V.: männlich, geb. 1968
Neuroblastom intrathoracal rechts, Stadium I. Nach operativer Entfernung in tumorfreier

Vollremission, Spotttest negativ. LAI - Test
18 Monate p.op. mit Antigen FK.L.: AIQ = 55.
SDFQ = 33.

3.2. Nephroblastom (Wilms - Tumor)

3.2.1. R.T.: männlich, geb. 1965
Tumortotalexstirpation, Tumorbettbestrahlung,
3 Monate Vincristin und Actinomycin D. LAI -
Test 2 Jahre p.op. in klinisch tumorfreiem
Zustand mit Antigen H.R.: AIQ = 25. SDFQ = 23.

3.2.2. G.J.: weiblich, geb. 1967
Totalexstirpation eines 0,8 kg schweren, links-
seitigen Nephroblastoms, Lungenlappenresektion
rechts, 4 Monate später wegen zweier Metasta-
sen Tumorbett- und Lungenbestrahlung, 18 Mo-
nate Actinomycin D und Vincristin. LAI - Test
18 Monate nach Lungenresektion in klinisch
tumorfreiem Zustand mit Antigen H.R.: AIQ = 10.
SDFQ = 0.

3.2.3. H.R.: männlich, geb. 1970
Totalexstirpation eines 0,9 kg schweren Tumors,
Lungenlappenresektion 4 Monate später wegen
Metastasen. Tumorbett- und Lungenbestrahlung,
Actinomycin D und Vincristin. LAI - Test 7
Monate nach der ersten Operation, bei noch
bestehenden Lungenmetastasen, mit autogenem
Antigen: AIQ = 11. SDFQ = 100.

3.2.4. S.H.: weiblich, geb. 1959
Doppelt faustgroßer, rechtsseitiger Tumor und
Lungenmetastasen links. Tumorbett- und Lungen-
bestrahlung, Actinomycin D und Vincristin. LAI-
Test 5 Wochen nach Tumorexstirpation mit Anti-
gen H.R.: AIQ = 11. SDFQ = 100.

3.2.5.: St.B.: weiblich, geb. 1967
Entfernung eines linksseitigen 700 g schweren

Tumors. LAI - Test 1 1/2 Jahre nach der Operation bei bestehenden Lungenmetastasen: AIQ = 15. SBFQ = 33. Gestorben 7 Monate nach Operation.

3.2.6. B.H.: weiblich, geb. 1966

Entfernung eines linksseitigen Tumors. Nach Tumorbettbestrahlung, Actinomycin D und VCR klinisch tumorfrei. LAI - Test mit Antigen St. 3. 2 Jahre p.op.: AIQ = 34. SBFQ = 100.

3.3. Lorbus Hodgkin

3.3.1. F.H.: männlich, geb. 1950

Klinisches Stadium II₂ - IV₂ Befall zervikaler, mediastinaler, iliakaler Lymphknoten (Moduläre Sklerose, daraus Antigenbereitung) und des Beckenknochens, Zustand nach Splenektomie. Nur temporäre Remission durch Bestrahlung und Zytostatika. LAI - Test 1 1/2 Jahre nach Krankheitsausbruch mit autogenem Antigen: AIQ = 55. SBFQ = 100. Mit Retikulosarkomantigen M.P.: AIQ = 18.

3.4. Leukämisches Retikulosarkom

3.4.1. H.F.: männlich, geb. 1930

Befall von Leber, Milz, Halslymphknoten, Knochenmark (18 % Blasten) und Blut (3 % Blasten). Remission durch Zytostatika. LAI - Test im Tumorstadium mit autogenem Antigen: AIQ = 21. SBFQ = 100.

3.5. Hepatokarzinom

3.5.1. G.W.: männlich, geb. 1961

Entfernung eines 400 g schweren hepatozellulären Karzinoms und Resektion des rechten Leberlappens. LAI - Test am Tag nach der Operation mit autogenem Antigen: AIQ = 29. SBFQ = 90.

4. Ergebnisse

4.1. Grundlegende Versuche

4.1.1. Tuberkulin als Antigen

Anhand des Tuberkulinmodells für die zellständige Immunität wurde der Coulter - LAI - Test als tauglich demonstriert und mit der Zählkammermethode nach HALLIDAY und MILLER (1972) verglichen. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse aller Versuche.

Es stellte sich heraus, daß sich bei den Leukozyten (Lymphozyten und Monozyten) aller Patienten mit positiver Hauttestung eine Adhärenzinhibition durch Tuberkulin erzielen ließ. Die Adhärenz der Leukozyten von tuberkulin - negativen Personen dagegen wurde nicht gemindert. Im Vergleich zum Zählkammer - LAI - Test traten wesentlich geringere Standardabweichungen auf. (Vgl. HALLIDAY und MILLER, 1972). Die Primäradhärenz (= Adhärenz der Kontrolle ohne Antigen) stieg nach einer Zellkultur von 2 bis 3 Tagen Dauer an.

4.1.2. PHA als Antigen

Bei drei Versuchen mit den Leukozyten von gesunden Personen ergab sich keine Adhärenzinhibition nach Zugabe von PHA (siehe Tabelle 2).

Tabelle 1: LAI - Test mit Tba als Antigen

Patient	Kontrolle adh.Zellen	PHA adh.Zellen
1.1.1	27 ± 4	27 ± 5
1.1.2	27 ± "	29 ± 2
1.1.3	27 ± 4	27 ± 5

Tabelle 1: Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch
Phenol

Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch Phenol

Leukozyten - Methode

Person	Leuko- test	Kultur- dauer	Tuberk.- konzentr.	Adh. Zellen (in % der ges.) ($\bar{x} \pm$ St.abw.)	AI
H.F.	pos.	0 h	- 1000	21 $\pm$ 4 12 $\pm$ 5	48
D.L.	pos.	48 h	10	49 $\pm$ 4 28 $\pm$ 6	43
F.L.	pos.	72 h	- 10 1000	47 $\pm$ 5 33 $\pm$ 9 18 $\pm$ 6	30 32
E.L.	pos.	72 h	- 10 100 1000	36 $\pm$ 5 36 $\pm$ 7 22 $\pm$ 9 22 $\pm$ 5	0 30 39
F.K.	pos.	72 h	- 100	23 $\pm$ 6 18 $\pm$ 2	22
N.J.	pos.	72 h	- 100	42 $\pm$ 2 22 $\pm$ 7	40
G.W.	pos.	72 h	- 100	32 $\pm$ 5 22 $\pm$ 2	1
P.P.	neg.	0 h	- 100	17 $\pm$ 4 16 $\pm$ 4	0
K.K.	neg.	72 h	- 10 100 1000	46 $\pm$ 6 44 $\pm$ 4 44 $\pm$ 2 42 $\pm$ 5	0 0 0
M.B. ₁	neg.	72 h	- 100	30 $\pm$ 7 33 $\pm$ 3	0
M.B. ₂	neg.	72 h	- 100	25 $\pm$ 6 25 $\pm$ 4	0

Zählkammer - Methode

Person	Haut- test	Kultur- dauer	Tuberk.- konzentr.	Adh.Zellen (in % der ges.) ($\bar{x} \pm$ St.abw.)	AIQ
H.F.	pos.	24 h	- 100	42 $\pm$ 22 22 $\pm$ 15	48
D.L.	pos.	48 h	- 10	59 $\pm$ 24 34 $\pm$ 28	44
F.L. ₁	pos.	72 h	- 1000	34 $\pm$ 24 5 $\pm$ 7	85
F.L. ₂	pos.	72 h	- 100	38 $\pm$ 22 24 $\pm$ 17	37

4.2. Tumorextrakte als Antigen

Bei den Versuchen wurden Tumorantigene in verschiedenen Kombinationen mit den Zellen der Patienten verwendet. Wegen der besseren Übersichtlichkeit sind die Ergebnisse in den Tabellen aber getrennt aufgeführt.

4.2.1. Adhärenzinhibition durch autogene Tumorantigene

Bei allen Versuchen, in denen gegen die Leukozyten des Patienten das aus seinem eigenem Tumorgewebe gewonnene, autogene Antigen eingesetzt wurde, ließ sich eine Adhärenzinhibition feststellen (siehe Tabelle 3). Im Durchschnitt sank die Adhärenz von 33 % auf 24 % (AIQ = 25). Unspezifische Antigeneffekte wurden durch Verwendung von Antigenen aus andersartigen Tumoren (allogene Antigene), bzw. von Zellen einer gesunden Person ausgeschlossen.

Tabelle 3: Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch Tumorene Antigene

Beweis der Tumorspezifität durch Gegentest mit allo-
genen Antigenen.

Patient	Tumor	Antigen	Adh.Zellen (in % der ges.) ($\emptyset \pm$ St.abw.)	AIQ
D.L.	gesund	- LD (Neurobl.)	38 $\pm$ 2 39 $\pm$ 4	0
L.D.	Neuro- blastom	- LD GW (Hepatoca.)	28 $\pm$ 2 18 $\pm$ 4 27 $\pm$ 5	64 0
H.R.	Nephro- blastom	- HR FAL(Neurobl.)	37 $\pm$ 3 33 $\pm$ 4 39 $\pm$ 4	11 0
St.B.	Nephro- blastom	- St.B. FAL(Neurobl.)	40 $\pm$ 2 34 $\pm$ 3 38 $\pm$ 4	15 0
G.W.	Hepato- ca.	- GW LD (Neurobl.)	24 $\pm$ 7 17 $\pm$ 3 23 $\pm$ 2	29 0
M.P.	Retikulo- sarkom	- MP HG(Lymphosark.)	39 $\pm$ 5 31 $\pm$ 5 38 $\pm$ 3	21 0
F.S.	M.Hodg- kin	- FS FAL(Neurobl.)	22 $\pm$ 2 10 $\pm$ 5 21 $\pm$ 4	55 0
FX.L.	Neuro- blastom	- FAL	38 $\pm$ 3 22 $\pm$ 9	42

4.2.2. Adhärenzinhibition durch isogene Tumorantigene

Wurde gegen die Zellen eines tumorkranken Patienten nicht ein autogenes, Antigen, sondern ein fremdes, aber aus einem histologisch gleichartigen Tumor gewonnenes, isogenes Antigen verwendet, so trat auch hier eine signifikante Adhärenzinhibition auf (siehe Tabelle 4).

Der AIQ betrug im Durchschnitt 43. Er war bei der Neuroblastomgruppe größer als bei den Wilms - Tumoren (52 zu 24).

Zum Teil war die Adhärenz - Inhibition durch isogene Tumorantigene stärker als durch autogene, zum Teil bei Zellen von Patienten mit gleichen Tumoren stärker als bei den eigenen Zellen; d.h. die Adhärenz - Inhibition hängt einerseits von der "Stärke" des Antigens ab, andererseits von der immunologischen Lage der Zielzellen.

Auch hier wurden unspezifische Effekte durch Gegentests mit allogenen Antigenen ausgeschlossen:

Abb. 4: Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch eine
Neuroblastose

Patient	Antigen	Adh. Zellen (in % der ges.) ($\pm$ St.abw.)	MI
<u>Neuroblastom</u>			
I.V. 1	- LD	37 $\pm$ 10 17 $\pm$ 3	40
I.V. 2	- FAL	37 $\pm$ 1 19 $\pm$ 2	49
C.H.	- LD	39 $\pm$ 3 21 $\pm$ 4	48
I.V.	- LD FAL	37 $\pm$ 3 22 $\pm$ 5 14 $\pm$ 4	41 62
I.S.	- FAL	40 $\pm$ 3 7 $\pm$ 3	13
PA.I.	- LD	38 $\pm$ 3 26 $\pm$ 6	32
I.V.	- FAL	33 $\pm$ 3 15 $\pm$ 5	55
<u>Milms - Tumor</u>			
R.F.	- ER	53 $\pm$ 4 40 $\pm$ 3	25
C.H.	- ER	42 $\pm$ 5 32 $\pm$ 7	26
C.J.	- ER	39 $\pm$ 2 35 $\pm$ 2	10
B.H.	- StD	38 $\pm$ 3 25 $\pm$ 9	30

4.2.3. Test mit allogenen Tumorantigenen

Durch allogene Tumorantigene konnte keine signifikante Adhärenzinhibition erzielt werden (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Keine signifikante Leukozytenadhärenzinhibition durch allogene Tumorantigene

Patient	Antigen	Adh. Zellen (% der ges.) ($\bar{x}$ $\pm$ St. abw.)	
I.V. (Neurobl.)	- StB (Wilms-Tu)	33 $\pm$ 3 32 $\pm$ 5	
L.D. (Neurobl.)	- GW (Hepato-Ca)	28 $\pm$ 2 27 $\pm$ 5	
L.S. (Neurobl.)	- HR (Wilms-Tu)	37 $\pm$ 1 38 $\pm$ 2	
B.H. (Wilms-Tu)	- FXL (Neurobl.)	38 $\pm$ 3 38 $\pm$ 3	AIQ = 0
G.J. (Wilms-Tu)	- FXL	39 $\pm$ 2 39 $\pm$ 3	
S.W. (Wilms-Tu)	- FXL	43 $\pm$ 5 41 $\pm$ 3	
St.B. (Wilms-Tu)	- FXL	40 $\pm$ 2 39 $\pm$ 4	
G.H. (Hepato-Ca)	- LD (Neurobl.)	24 $\pm$ 7 23 $\pm$ 2	

4.4.4. Blockierung der Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch Serumzugabe

Nach Zugabe von Patientenserum, das 1:10 mit physiologischer NaCl - Lösung verdünnt wurde, trat in den meisten Fällen eine starke Blockierung der Adhärenzinhibition auf. Auch dieser Effekt ist streng spezifisch, d.h. er ließ sich nur durch autogenes oder isogenes Serum erzielen (siehe Tabelle 6 und 7).

Tabelle 7: Blockierung der Leukozyten - Adhärenz - Inhibition durch isogenes Serum

Patient	Antigen	Serum	Adh.Zellen (% der ges.) ($\bar{x} \pm$ St.abw.)	SEFQ
L.I. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - RR (Neurobl.)	45 $\pm$ 10 9 $\pm$ 5 39 $\pm$ 4	83
S.B. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - RR (Neurobl.)	37 $\pm$ 3 22 $\pm$ 5 42 $\pm$ 6	100
R.V. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - LD	39 $\pm$ 3 21 $\pm$ 4 44 $\pm$ 6	100
B.H. (Wilms- Tumor)	- StB (Wilms-Tu)	- - StB	38 $\pm$ 3 25 $\pm$ 9 36 $\pm$ 2	85
S.W. (Wilms- Tumor)	- HR (Wilms-Tu)	- - GJ (Wilms-Tu)	43 $\pm$ 5 32 $\pm$ 7 43 $\pm$ 5	100

Tabelle 6: Blockierung der Leukozyten - Adhärenz - Inhibition
durch autogenes Serum

Patient	Antigen	Serum	adh.Zellen (% der ges.) ($\bar{x} \pm$ St.abw.)	5.32
FX.L. (Neuro- blastom)	- FXL FXL	- - FXL	38 $\pm$ 3 22 $\pm$ 3 36 $\pm$ 5	87
L.D. (Neuro- blastom)	- FXL FXL	- - LD	40 $\pm$ 3 7 $\pm$ 3 19 $\pm$ 3	86
I.V. (Neuro- blastom)	- FXL FXL	- - IV	33 $\pm$ 3 15 $\pm$ 5 21 $\pm$ 5	53
L.S. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - LS	37 $\pm$ 1 19 $\pm$ 2 30 $\pm$ 4	100
L.B. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - SB	37 $\pm$ 3 22 $\pm$ 5 36 $\pm$ 3	85
R.R. (Neuro- blastom)	- LD LD	- - RR	35 $\pm$ 3 21 $\pm$ 4 40 $\pm$ 4	100
G.W. (Hepato- Ca)	- GW GW	- - GW	24 $\pm$ 3 17 $\pm$ 5 23 $\pm$ 1	87
B.H. (Wilms- Tumor)	- StB (Wilms-Tu)	- - BH	38 $\pm$ 3 25 $\pm$ 9 30 $\pm$ 9	100
S.W. (Wilms- Tumor)	- HR (Wilms-Tu)	- - SW	45 $\pm$ 5 2 $\pm$ 7 44 $\pm$ 3	100
H.R. (Wilms- Tumor)	- HR HR	- - HR	37 $\pm$ 3 33 $\pm$ 4 37 $\pm$ 4	100
R.T. (Wilms- Tumor)	- HR HR	- - RT	53 $\pm$ 4 40 $\pm$ 3 43 $\pm$ 3	23

Besonders stark (bis zu 100 %) war die Blockierung durch Seren von Patienten, deren Tumor ein starkes Wachstum aufwies. Dagegen konnte mit dem Serum des Patienten R.T., der nach Entfernung eines Wilms - Tumors tumorfrei blieb, 2 Jahre nach der Operation die Adhärenzinhibition nur sehr schwach blockiert werden (SBEQ = 25). Auch der Patient L.D. (Neuroblastom) zeigte 4 Wochen nach Tumorentfernung eine starke Verminderung der Blockierung (SBEQ = von 93 auf 14).

Um unspezifische Wirkungen durch das Serum auszuschließen, wurde bei jedem Test eine sogenannte Serumkontrolle durchgeführt; d.h. zu 0,1 ml Zellsuspension wurde 0,1 ml verdünntes Serum ohne Antigenzusatz gegeben. In keinem Fall trat dabei eine signifikante Veränderung der Adhärenz gegenüber der Hank's Kontrolle auf.

4.2.5. LAI - Test als Verlaufskontrolle bei einem Patienten mit Neuroblastom

Bei dem Patienten L.D. wurden innerhalb von 6 Monaten 4 LAI - Tests durchgeführt. Der erste Test erfolgte am Tag vor der Operation (25.6.1972), der letzte am 13.11.1972. Dabei wurden Ergebnisse registriert, wie sie Tabelle 8 zeigt. Siehe auch Abbildung 1 und 2.

Tabelle 3: Leukozyten - Adhärenz - Inhibition und
blockierende Faktoren bei dem Patienten
... (cont'd.)

		Adhärenzellen in % der gesamten Population.					
	ohne Ag	Ag LD	AI ₁	Ag LD+ Serum	SBFG	Ag FML	AI ₂
24.06.72	50	35	30	49	93	-	-
27.07.72	45	9	80	14	14	-	-
04.10.72	28	18	36	22	40	15	54
13.11.72	40	10	75	20	33	7	15

†: Ag FML ist ein Neuroblastom - Antigen.

Die Standardabweichung hielt sich auch hier in für den fest üblichen Rahmen.

Abbildung 1: AI₁ beim Patienten L.D.

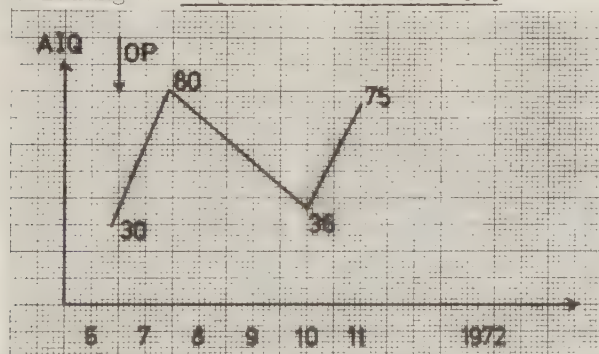
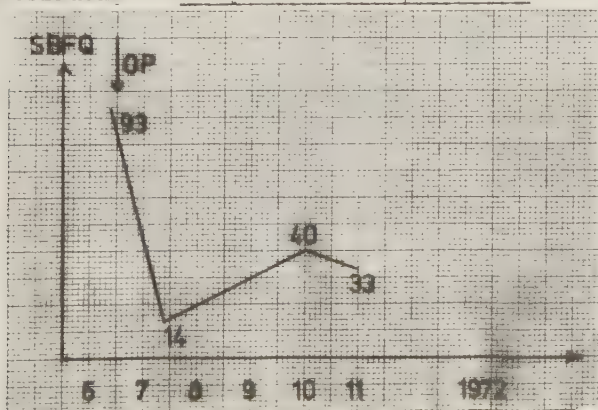


Abbildung 2: SBFG beim Patienten L.D.



4.3. LAI - Test bei einem Mädchen nach überstandener Kryptokokkenmeningitis

In Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Neuhaus (Universitätskinderklinik München) wurde ein 10-jähriges Mädchen nach überstandener Kryptokokkenmeningitis 3 mal dem LAI - Test unterzogen. In allen drei Versuchen konnte keine Adhärenzinhibition durch Kryptokokkenantigen festgestellt werden (siehe Tabelle 9). Diese Ergebnisse korrelierten mit den negativen Hauttesten und den Lymphozytenstimulationstests, die im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen sehr schwach ausfielen (GROSSE - WILDE, 1975). Bei den beiden im Hauttest kryptokokkus - positiven Kontrollpersonen ließ sich jedoch durch das Antigen eine deutliche Adhärenzinhibition auslösen.

Auch Candida - Antigen in genügend hoher Konzentration (1000 PNU/ml) hemmte die Adhärenz signifikant.

Tabelle 9: LAI - Test bei einem Mädchen mit überstandener Kryptokokkenmeningitis (M.B.) und bei gesunden Kontrollpersonen (beide im Hauttest kryptokokkus - positiv).

	Kontrolle	Kryptok.Ag	AIQ	Candida-ag
<u>M.B.</u>				
25.1.	24	24	0	-
27.4.	30	30	0	30
19.7.	25	21	0	17
<u>K.J.</u>				
7.6.	42	29	31	22
<u>G..</u>				
19.7.	32	19	41	22

8: hier 500 IIU/ml, sonst 1000.

5. Diskussion

5.1. Irreversiblen Adhärenz (Adhärenz ohne Antigenzusatz)

Im Durchschnitt aller Versuche betrug die Irreversiblen Adhärenz der Leukozyten 56 %. Standardabweichung: 19 %. Die unterschiedliche Irreversiblen Adhärenz ist in erster Linie durch die Versuchsanordnung selbst bedingt, aber auch andere Faktoren, wie zum Beispiel patientenspezifische Unterschiede, nehmen Einfluß.

5.1.1. Zellart

MILLIDAY und MILLER, 1972, benutzten Peritonealmakrophagen aus dem Peritoneum, von denen etwa 50 % hafteten. Ich dagegen stellte fest, daß auch Lymphozyten (und Monozyten) aus menschlichem Blut für den LAI - Test geeignet sind. Für die Adhärenz kommen dabei vor allem die während der dreitägigen Kultur in große, monozytoide Zellen umgewandelten Lymphozyten in Frage, sowie die ursprünglichen Monozyten. Nach der dreitägigen Zellkultur ergibt die Differenzierung der Zellsuspension maximal 30 % große Lymphozyten und Monozyten; der Rest besteht aus kleinen Lymphozyten.

GLADE et al., (1970) fanden, daß transformierte Lymphozyten das gleiche Migrationsverhalten zeigen wie Peritonealmakrophagen von Meerschweinchen. Diese Tatsache machten sich SCHLITZ II et al. (1972) zunutze: sie verwendeten für ihre Migrationsinhibitionsexperimente menschliche, Lymphoblastoide Zellen anstelle von Makrophagen.

Darüber hinaus stellten THOR und DRAY (1968) fest, daß ein großer Teil der Lymphozyten

ALBS und KALLAS schlagen als "cell surface active minimum" einen Klebstoff vor, der von der Zelle ausgeschieden wird.

5.2.1. Lymphozyten - Adhärenz - Inhibition

Der LAI - Test ist nach der Lymphozytenproliferationsstimulation durch Mitogene, dem Lymphozytotoxizitätstest (HALLERÖR und HALLERÖR, 1971), dem Makrophagen - Migrations - Inhibitionstest (GEORGE und VAUGHAN, 1962), dem Colony - Inhibitionstest (HALLSTRÖM und HALLSTRÖM, 1971), sowie dem schlichten Hauttest eine weitere Möglichkeit zur Untersuchung der zellständigen Immunität. Während aber bei den anderen Tests die Funktionsmechanismen mehr oder weniger geklärt sind, ist man beim LAI - Test noch auf Vermutungen angewiesen.

Folgender Mechanismus liegt nahe: Sensibilisierte Lymphozyten schütten auf einen spezifischen Antigenreiz zytotoxische Lymphokine aus. Diese wiederum schädigen die ebenfalls in der Suspension vorhandenen Zielzellen - Makrophagen oder lymphoide Zellen - so, daß sie nicht mehr haften können (HALLIDAY und MILLER, 1972; LANFERT und DIETMIR, 1973). Am Analogeschluß zum Migrations - Inhibitions - Faktor (BLOCH und BENNETT, 1956) könnte man sogar einen Adhärenzinhibitions - Faktor postulieren. Es wäre aber auch möglich, daß das Antigen direkt an der Zielzelle angreift und so deren Haftfähigkeit aufhebt. Sichere Aussagen lassen sich nur über die Bedingungen machen, unter denen eine Adhärenzinhibition auftritt, und über deren Ausmaß.

5.2.1. Sensibilisierte Zellen

Um eine Adhärenz - Inhibition auszulösen, muß

die dafür verantwortliche Zelle gegen das Antigen sensibilisiert sein, wie bei allen anderen Tests zur zellständigen Immunität.

Beweis:

1. Es ist nicht möglich, bei Leukozyten von tuberkulinnegativen Personen eine Adhärenz-inhibition durch Tuberkulin zu bewirken. Nur die Leukozyten von im Hauttest positiven - also sensibilisierten Personen reagieren auf den spezifischen Antigenreiz.
2. Bei den Leukozyten von Tumorpatienten konnte ich keine Adhärenzinhibition durch allogene Tumorantigene auslösen. Nur dann, wenn die Zellen das Antigen kannten (sensibilisiert waren ?), kam eine Adhärenzinhibition zustande.
3. Bei dem Kryptokokkose - Fall konnte man die Adhärenz nicht durch das entsprechende Antigen vermindern, obwohl die Zellen der Patientin sicherlich mit dem Antigen in Berührung gekommen waren. Die für die zellständige Immunität verantwortlichen Zellen waren aber offensichtlich nicht in der Lage, das Antigen ausreichend zu verarbeiten. Anzeichen dafür sind auch der negative Hauttest und die unzureichende Lymphozytenstimulation.

Neuere Veröffentlichungen bestätigen das Vorliegen eines spezifischen Immundefektes bei Fällen von schwerer Kryptokokkose (BLAFORD und BROWN, 1957).

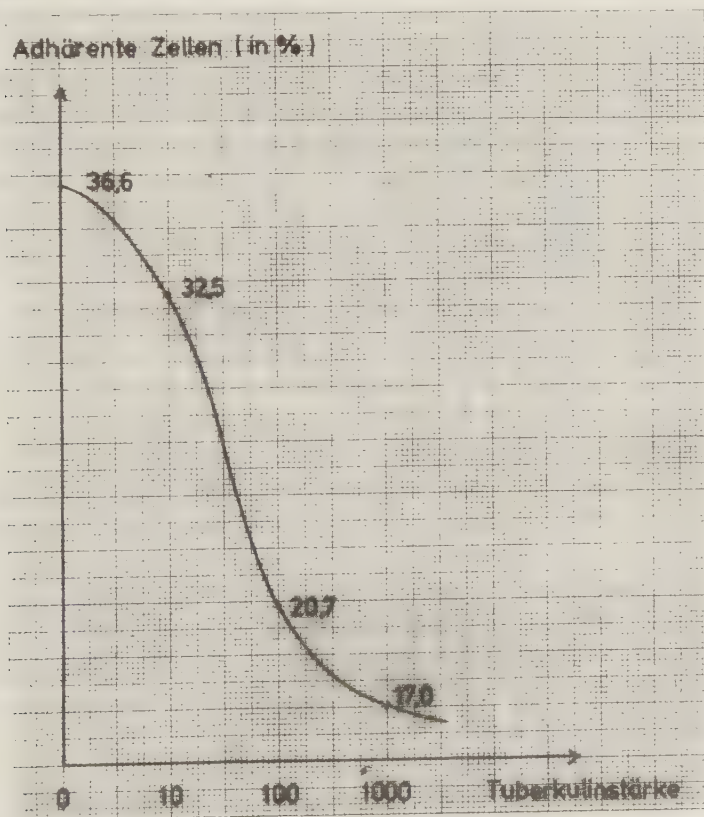
- 5.2.2. Ausmaß der Leukozyten - Adhärenz - Inhibition
- Das Ausmaß der Adhärenzinhibition ist eine funktionell organische Reaktion des Individuums. Je höher die Antigenkonzentration, desto stärker

wird die Adhärenz gemessen. Als Beweis dient hier eine Korrelation aller Tests mit Tuberkulin als Antigen bei tuberkulinreaktiven Personen (siehe Abbildung 3).

Abbildung 3: Darstellung einer möglichen Funktion der Adhärenz-inhibition in Abhängigkeit von der Konzentration des Antigens.

Abszisse: Durchschnitt der adhärenzenten Zellen aller Tuberkulintests.

Ordinate: Stärke des Tuberkulins (log. Auftragung)



Der Graph der in Abbildung 3 dargestellten Funktion nähert sich asymptotisch einem Grenzwert, d.h. bei sehr hohen Antigenkonzentrationen bringt eine Steigerung der Konzentration keine wesentliche Erhöhung der Adhärenzinhibition mehr. Es ist jedoch anzunehmen, daß irgendwann eine Antigenkonzentration erreicht wird, die für die Zellen toxisch ist.

Bei den Tests mit Candida - Antigen konnte ich feststellen, daß eine Antigenkonzentration von 500 PNU/ml nicht ausreicht, um eine Adhärenzinhibition auszulösen. Erst 1000 PNU/ml genügen. Es besteht also auch eine untere Schwelle für die Antigenkonzentration. Diese Schwelle ist aber individuell verschieden hoch. So konnte ich bei einigen Personen mit Tuberkulin der Stärke 10 noch keine Adhärenzinhibition erzielen, erst bei Stärke 100 war eine geringe Adhärenz festzustellen.

Dies trifft auch auf andere Tests für die zellständige Immunität zu (THOR und DRAY, 1968; REIBURGER und YOUNANS, 1973).

5.3. Tumorantigene

Mit autogenen Tumorantigenen ließ sich zuverlässig eine Leukozyten - Adhärenz - Inhibition erreichen (siehe Tabelle 3). Dasselbe gilt für isogene Antigene, allerdings mit Beschränkung auf Neuroblastom- und Hilar - Tumor - Antigene. Für die anderen Antigene kann ich wegen der geringen Anzahl der Experimente keine Aussagen machen.

Die Inhibition der Leukozyten - Adhärenz durch Tumorantigene ist also ein spezifisches Merkmal für Tumorantigene. Ein spezifisches Merkmal

den (MORSE und LEVIN, 1957; KLEIN et al., 1960; KLEIN et al., 1961; KLEIN et al., 1962; KLEIN et al., 1963; KLEIN et al., 1964; KLEIN et al., 1965; KLEIN et al., 1966; KLEIN et al., 1967; KLEIN et al., 1968; KLEIN et al., 1969; KLEIN et al., 1970; KLEIN et al., 1971; KLEIN et al., 1972).

Blockierende Faktoren im Serum

Wenn also durch Tumorantigene das System der zellständigen Immunität in Gang gesetzt werden kann, müßten eigentlich die sensibilisierten Lymphozyten die Tumorzellen vernichten. In vitro tun sie das auch, wie der Lymphozytotoxizitäts-Test beweist (KLEIN et al., 1969; KLEIN et al., 1970; JAGARLAMOCY et al., 1971; KLEIN et al., 1972).

In vivo können sie aber daran gehindert werden: Blockierende Faktoren im Serum des Patienten schützen den Tumor (KLEIN et al., 1969; KLEIN et al., 1971 b; KLEIN et al., 1973). Diese Blockierenden Faktoren konnte ich auch mit dem LAI - Test nachweisen. Sie fanden sich im Serum tumorkranker Patienten (siehe Tabelle 3 und 7).

Das Vorhandensein der Blockierenden Faktoren ist an das Tumorstadium gebunden (KLEIN et al., 1972). So konnte beim Patienten L.D. 4 Wochen nach Entfernung eines Neuroblastoms ein deutlicher Abfall der Blockierenden Faktoren festgestellt werden. Beim Patienten R.T., der zwei Jahre tumorfrei blieb, konnte durch das autogene Serum nur eine sehr geringe Blockierung erreicht werden (SBFQ = 23).

Es wird vermutet, daß die Blockierenden Faktoren Antigen - Antikörper - Komplexe sind (SJOÖGREN et al., 1971). Bei einem pH von 3,1 lassen sie sich aus Tumorgewebe auswaschen. Sie setzen sich aus einer Fraktion mit hohem Molekulargewicht (über 100 000) und einer mit niedrigem

Molekulargewicht (unter 100 000) zusammen.
Nur beide Fraktionen in Verbindung miteinander
wirken blockierend (SJÖGREN et al., 1972).
Über den Funktionsmechanismus der Blockierung
ist bisher wenig bekannt. BAKDAL et al. (1972)
vermuten, daß die Blockierenden Faktoren die
Tumorzelle bedecken und so gegen die Lympho-
zyten abschirmen.

5.

Zusammenfassung

Ein neuer, einfacher, durch Coulter - Zählung halbautomatischer In - vitro - Test (Leukozyten - Adhärenz - Inhibition = LAI), der auf unterschiedlicher Glashaftung isolierter und inkubierter Blutleukozyten (Lymphozyten und Monozyten) nach Antigenberührung beruht, wird beschrieben. Am Modell der Tuberkulinsensibilität wurde die Zuverlässigkeit des Testes in 16 Versuchen an 11 Personen geprüft. Bei tuberkulinpositiven Individuen fiel die Leukozytenadhärenz durch Tuberkulinzusatz in vitro durchschnittlich von 36,6 auf 17,0 %. Ein unspezifisches Antigen wie Phythaemagglutinin ergab keine Reaktion in der Versuchsanordnung. Der LAI - Test wurde weiter bei einem Fall von Kryptokokkus - Meningitis eingesetzt. Im Vergleich zu Kontrollpersonen konnte hier der LAI - Test ein fehlendes Ansprechen der Patientin auf Kryptokokkus - Antigen, also eine Störung der zellulären Immunität feststellen. Am aufschlußreichsten waren die Versuche mit wasserlöslichen Tumorextrakten, die als Antigen dienten. 15 Kinder mit Neuroblastom, Nephroblastom, leukämischem Lymphosarkom, Lobus Hodgkin und Hepatocarcinom wurden wiederholt mit dem LAI - Test im Verlauf ihrer Erkrankung untersucht. Bei fast allen Patienten, besonders solchen mit Neuroblastom, konnten tumorspezifisch sensibilisierte Lymphozyten, d.h. eine signifikante Leukozyten - Adhärenz - Inhibition, durch Testung mit autogenen sowie mit isogenen Tumorextrakten nachgewiesen werden. Eine Verlaufskontrolle bei einem Kind mit Neuroblastom zeigte, daß die mit dem LAI - Test nachgewiesenen Blockierenden Serumfaktoren nach der Tumorexstirpation abfallen.

7.

Literaturverzeichnis

ANDERSEN, V., G.BENNDIEN and T.SCHICKE:
An in vitro demonstration of cellular immunity
against autologous mammary carcinoma in man.
Acta med. Scand. 186, 101 - 103 (1969).

DAHLGREN, S.O., R. LILJEN AYES and H.O. SJÖGREN:
Facilitation of polyoma tumor growth in rats
by blocking sera and tumor eluate.
Int. J. Cancer 9, 97 - 108 (1972).

ELOOM, B.R. and B. BEINERT:
Mechanism of a reaction in vitro associated
with delayed hypersensitivity.
Science 153, 80 - 82 (1966).

BLOOM, B.R., B.BENNETT, H.F.ONTTGEN, E.P.MCLEAN
and L.J.CID:
Demonstration of delayed hypersensitivity to
soluble antigens of chemically induced tumours
by inhibition of macrophage migration.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 64, 1176 - 1180
(1969).

method for quantitation of human leukocyte adhesion to glass.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 141, 196 - 202 (1972).

SUBMITIN, J., I. PERLIN, K. HOLSTELL and G.
 1970-71:
 Cellular and humoral immune responses to hu-
 man urinary bladder carcinomas.
 Int. J. Cancer 5, 310 - 319 (1970).

DIAZ CHD, A.D. and J.L. BARNETT:
 Disseminated Cryptococcosis in Man: Decreased
 Lymphocyte Transformation in Response to
Cryptococcus neoformans.
 J. Infect. Dis. 127, 694 - 697 (1973).

MORGAN, L. and J.H.VALLBOOM:

In vitro cell migration as a model for delayed hypersensitivity.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111, 514 - 521 (1962).

MORGAN, L.R., H.GROTH, S.L. ROSEN and R.HILGREN:

Proceedings of the 5th leukocyte culture conference.

Academic Press, New York (1970).

MORGAN - GROTH, L.

Persönliche Mitteilung.

Institut für Hämatologie, München (1973).

HALLIDAY, W.J.

Macrophage migration inhibition with mouse tumour antigens: Properties of serum and peritoneal cells during tumour growth and after tumour loss.

Cell. Immunol. 2, 113 - 122 (1972).

HALLIDAY, W.J. and S.MILLER:

Leukocyte adherence inhibition: A simple test for cell - mediated tumour immunity and serum blocking factors.

Int. J. Cancer 2, 477 - 483 (1972).

HELLSTRÖM, I. and K.E.HELLSTRÖM:

Colony inhibition and cytotoxic assays.

In: In vitro methods in cell - mediated immunity.

Hrsg.: B.R.BLOOM and P.R.GLADE.

Academic Press, New York (1971).

HELLSTRÖM, I., K.E.HELLSTRÖM, H.O.SJÖGREN and G.A. JÄGER:

Demonstration of cell - mediated immunity to human neoplasms of various types.

Int. J. Cancer 2, 1 - 16 (1971 a).

HILLSTRÖM, I., K.E. HILLSTRÖM, C.A. EVANS,
G.H. HEPPNER, G.B. PIERCE and J.F.S. YANG:
Serum - mediated protection of neoplastic
cells from inhibition by lymphocytes immune
to their tumor - specific antigens.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 62, 362 - 368
(1965).

HILLSTRÖM, I., K.E. HILLSTRÖM, H.C. SJÖGREN and
J. KILBOM:

Demonstration of cell - mediated tumor immu-
nity by sera from patients with growing neo-
plasms.

Int. J. Cancer 7, 226 - 237 (1971 b).

HILLSTRÖM, K.E., I. SJÖLUND, P. BYRNE, F.T.

JUNJING, E. MCDONOUGH and I. JALABRISI:

Cell - mediated and serum - blocking reac-
tivity to tumor - antigens in patients with
malignant melanoma.

Int. J. Cancer 11, 245 - 260 (1973).

HILLSTRÖM, I., K.E. HILLSTRÖM, H.C. SJÖGREN and J.F.
KILBOM:

In vitro detection of cytotoxic cellular
immunity to tumor - specific antigens
by a microcytotoxicity technique.

Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 61, 1000 - 1004
(1964).

HILLSTRÖM, I., K.E. HILLSTRÖM, H.C. SJÖGREN and
J. KILBOM:

The effect of a serum - mediated tumor im-
munity on the growth of tumor cells in
mice.

Int. J. Cancer 11, 245 - 260 (1973).

HILLSTRÖM, K.E., I. SJÖLUND, P. BYRNE, F.T.

JUNJING, E. MCDONOUGH and I. JALABRISI:

Cell - mediated and serum - blocking reac-

tivity to tumor - antigens in patients with

NEIBURGER, R.G. and G.P. YOUNG

Inhibition of migration of mouse macrophages
by tuberculin-sensitive lymphocytes and by
mouse migration inhibitory factor.

Infect. Immunity 7, 190 - 195 (1973).

OTTO, F. und D.O. SCHMID:

Lymphozytenisolierung aus dem Blut des Menschen
und der Tiere.

Blut 21, 118 - 121 (1970).

von PHILIPSBORN, E.:

Untersuchungen über die Klebrigkeit der lebenden
Leukozyten gesunder und kranker Menschen.

Fol.haemat. 41, 31 - 54 (1930).

PREHN, R.T. and J.M. MAIN :

Immunity to methylcholanthrene - induced sarcomas.

J.Nat.Cancer Inst. 18, 769 - 778 (1957).

SCHWETZ II, M.E., J.L. ROSSIO and M.C. DODD :

A sensitive and reproducible assay for the quanti-
tation of the MIF correlate of delayed hypersensi-
tivity in man.

Imm. Communic. 1, 211 - 222 (1972).

SCHOLLE, H., W. SCHLAG und H. RÜHL :

Vergleichende Untersuchung verschiedener Methoden
zur Isolierung peripherer menschlicher Lymphozyten .

Blut 24, 54 - 57 (1972).

SJÖGREN, H.O., I. HELLSTRÖM, S.C. BANSAL and

K.E. HELLSTRÖM :

Suggestive evidence that the "blocking antibodies"
of tumor bearing individuals may be antigen -
antibody - complexes.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 1372 - 1375 (1971).

SJÖGREN, H.O., I. HELLSTRÖM, S.C. BANSAL, G.A. WARNER
and K.E. HELLSTRÖM :

Elution of "Blocking Factors" from human tumors,
capable of abrogating tumor cell destruction by
specifically immune lymphocytes.

Int. J. Cancer 9, 17 - 28 (1972).

SUTER, D., B.R. BLOOM, E.M. WADSWORTH and H.F. CERTGLEN:

Use of the macrophage migration inhibition test to monitor fractionation of soluble antigens of chemically induced sarcomas of inbred guinea pigs.

J. Immunol. 109, 755 - 766 (1972).

TEOR, D.L. and S. DRAY:

A correlate of human delayed hypersensitivity: Specific inhibition of capillary tube migration of sensitized human lymph node cells by tuberculin and histoplasmin.

J. Immunol. 101, 51 - 60 (1968).

WISS, I. and J.F. WARD:

Some speculations on the rate of adhesion of cells to coverslips.

J. theor. Biol. 37, 169 - 179 (1972).

Lebenslauf

Ich wurde am 8. 6. 1949 in Augsburg geboren. Mein Vater ist August Dietmair, meine Mutter Anna Dietmair. Nach 4 Jahren Volksschule wechselte ich an das Humanistische Gymnasium bei St. Anna in Augsburg über. Dort legte ich nach 9 Jahren die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1968 / 69 erhielt ich einen Studienplatz für Humanmedizin an der Universität München. Dort bestand ich am 2. 10. 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 5.4. 1971 die ärztliche Vorprüfung.

Im Frühjahr 1974 werde ich mich hier auch der ärztlichen Prüfung unterziehen.

Elias Dietmair

